

Cosmetic and pharmaceutical compsn. contg. specific tri:peptide(s) - is prepd. by controlled hydrolysis of collagen, etc., for stimulating cell respiration or collagen synthesis, etc

Patent number: DE4244418
Publication date: 1993-07-01
Inventor: QUELLE GERHARD (DE)
Applicant: QUELLE GERHARD (DE)
Classification:
- **International:** A61K7/48; A61K37/02
- **European:** A61K8/65; A61K38/01D2; A61K38/04; C07K14/78
Application number: DE19924244418 19921230
Priority number(s): DE19924244418 19921230; DE19914143178 19911230

Report a data error here

Abstract of DE4244418

Compsn. for cosmetic, pharmaceutical or biotechnical use contains the sequence Gly-His-Lys and/or Gly-Asp-Ser either as tripeptide and/or as part of longer peptides at a concn. of 1 picoM to 0.01M. Pref. the compsn. is prepd. by mild hydrolysis of collagen, (hydrolysed) gelatin, elastin, keratin, or connective tissue in 0.5-6N HCl for 0.1 hr. to 7 days at 20-121 deg. C and contains peptides and amino acids at 1 picoM to 1M. Alternatively it contains peptides produced by partial hydrolysis using collagenase from clostridium histolyticum. USE/ADVANTAGE - Compared to compsn. contg. non-hydrolysed material, this compsn. has better stimulating activity or cell respiration and collagen synthesis and/or better radical scavenging activity. Typical applications include (1) additive for cell growth media; (2) stimulation of healing and the immune system; (3) increasing endogeneous prodn. of erythropoietin; (4) for skin care, as anti-ageing factor and as radical scavenger.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 42 44 418 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁵:
A 61 K 7/48
A 61 K 37/02

②1 Aktenzeichen: P 42 44 418.7
②2 Anmeldetag: 30. 12. 92
④3 Offenlegungstag: 1. 7. 93

DE 42 44 418 A 1

③0 Innere Priorität: ③2 ③3 ③1
30.12.91 DE 41 43 178.2

⑦1 Anmelder:
Quelle, Gerhard, 6948 Wald-Michelbach, DE

⑦4 Vertreter:
Hach, H., Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 7100 Heilbronn

⑦2 Erfinder:
gleich Anmelder

⑤4 Peptid-Präparate und Verfahren zu deren Herstellung

⑤7 Die Erfindung betrifft Peptid-Präparate und Verfahren zu dessen Herstellung vorzugsweise durch partielle Hydrolyse von Bindegewebe, Kollagen, Elastin und Keratin, die Tripeptide oder Peptidsequenzen Gly-His-Lys und/oder Gly-Asp-Ser enthalten.

DE 42 44 418 A 1

Tabelle 1

Wirkungsvergleich zwischen nativem Kollagen, Präparat B und dem GHL-Peptid

Wirkung/Eigenschaften	Kollagen	Präparat B	GHL-Peptid	5
Feuchtigkeitsrückhaltevermögen	++	+	—	P
Zellatmungsaktivierend (Stimulierung des Zellstoffwechsels)	—	++	—	P
Pufferkapazität	+	++	—	P
Stimulierung der Kollagensynthese bei Fibroblasten	—	++	++	P
Förderung der Wundheilung	+	+	+	P
Radikalfängerwirkung	—	++	+	P
Superoxid-Dismutase-Wirkung	—	++	++	P
Immunstimulierende Wirkung	—	+	+	P
Penetrationsvermögen (Epidermis)	—	+	+	P
Gefahr durch Kontamination mit Säugetierviren	++	—	—	N
Denaturierung bei 30—37°C	++	—	—	N
P = Positive Eigenschaft N = Negative Eigenschaft				20

Diese Partialhydrolysate, isolierten Peptide und Präparate aus Aminosäuren und Peptiden sind von besonderer Bedeutung

1. für die Biotechnologie, als Zusatz für Zellkultur-Nährlösungen für serumarme oder definierte, serumfreie Zellkultur-Nährmedien (Applikationsbeispiel 1),
2. für die Medizin, als wundheilungsförderndes Mittel (Applikationsbeispiel 2), zur Immunstimulation und Wirkstoff zur Erhöhung der körpereigenen Erythropoetinbildung, und
3. für die Kosmetik, zur Pflege der Haut, als Anti-Aging-Faktor und Radikalfängerkomplex (Applikationsbeispiele 3 bis 5).

Grundsätzliche Methoden der Herstellung

1. Synthetische Herstellung

Die Komponenten der Rezeptur (Tabellen 2 bis 14: Rezepturfractionen) werden in geeigneter Weise vorge-
löst und gemischt. Einzelne Komponenten der Rezeptur, wie zum Beispiel die Tripeptidfraktion A und Tripep-
tidfraktion B, werden nach der Partialhydrolyse (grundsätzliche Methoden der Herstellung 3 bis 5) mit Hilfe
chromatographischer Methoden gereinigt, isoliert, konzentriert und anschließend dem Präparat zugegeben.

2. Halbsynthetische Herstellung

Komponenten der Rezeptur werden mit gentechnologisch gewonnenen Substanzen und/oder mit Partialhy-
drolysaten (siehe grundsätzliche Methoden der Herstellung 3 bis 5) gemischt.

3. Partialhydrolysat mit verdünnter Salzsäure

Tierhaut oder Tierlunge, Kollagen, Gelatine oder Elastin werden, wie in Anspruch 2 beschrieben, hydrolysiert,
anschließend filtriert, neutralisiert und mit Hilfe zum Beispiel der Umkehrosmose entsalzt. Gegebenenfalls
erfolgt eine Behandlung mit 1N-NaOH, eine Stunde bei Zimmertemperatur, mit anschließender Neutralisation
und erneuter Entsalzung.

4. Enzymatisches Partialhydrolysat mit Kollagenase aus *Clostridium histolyticum*

Dieses Enzym spaltet die sich wiederholende Gly-X-Y-Gly-X-Y-Gly-X-Y-Gly-Aminosäuresequenz des Kol-
lagens zwischen dem Y und Glycin (X, Y stehen für unterschiedliche Aminosäuren in der Kollagen-Aminosäure-
sequenz). Tierhaut oder Tierlunge bzw. Kollagen Typ I wird in Tris-HCl-Puffer, pH 7,6, in Anwesenheit von
CaCl₂ 90 Minuten bei 37°C mit Kollagenase behandelt und die Lösung anschließend 24 Stunden bei +4°C
dialysiert, konserviert und sterilfiltriert.

5. Partialhydrolysat von Hautkeratin mit Pepsin

Tierepidermis wird im Citrat-HCl-Puffer, pH 1,5, 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit Pepsin behandelt
(Verhältnis Pepsin zu Substrat 1 : 10), dialysiert, 24 Stunden bei pH 10,5 bei Zimmertemperatur gelagert, 1
Stunde mit 1N-NaOH bei Zimmertemperatur behandelt, neutralisiert, entsalzt und sterilfiltriert.

Tabelle 4

Beispiele 13 bis 18 (jeweils g/L Präparat)

Aminosäuren	Bereich	KAS-1	KAS-2	KAS-3	KAS-4	KAS-5	KAS-6	5
L-Alanin	0—20	0,2	2,2	7,0	10,0	10,0	—	
L-Arginin HCl	0—20	0,2	2,15	6,5	8,0	15,0	—	
L-Asparaginsäure	0—5	0,4	3,85	4,0	4,0	—	—	10
L-Cystein	0—0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	
L-Glutaminsäure	0—8	0,6	6,25	6,0	6,0	—	—	
Glycin	0—100	1,0	10,0	30,0	35,0	—	80,0	
L-Histidin HCl	0—1	0,1	1,0	1,0	1,0	—	—	
L-Hydroxyprolin	—	—	—	—	—	—	—	15
L-Isoleucin	0—10	0,2	1,85	5,5	6,0	—	—	
L-Leucin	0—12	0,4	3,35	6,0	8,0	—	—	
L-Lysin HCl	0—25	0,25	2,3	12,0	15,0	20,0	—	
L-Methionin	0—4	0,1	0,5	1,5	2,0	—	—	
L-Phenylalanin	0—8	0,2	1,5	4,0	2,0	—	—	20
L-Prolin	0—22	0,25	2,2	8,0	10,0	—	—	
L-Serin	0—15	0,7	6,7	10,0	12,0	15,0	—	
L-Threonin	0—10	0,2	1,85	5,0	6,0	10,0	10,0	
L-Tryptophan	0—0,5	0,05	0,2	0,2	0,2	—	—	
L-Tyrosin	0—3	0,2	1,5	1,5	1,5	—	—	25
L-Valin	0—15	0,2	1,8	3,0	4,0	—	—	

Tabelle 5

Beispiele 19 bis 24 (jeweils g/L Präparat)

Aminosäuren	Bereich	BAS-1	BAS-2	BAS-3	BAS-4	BAS-5	BAS-6	30
L-Alanin	0—50	4,1	5,3	7,0	11,0	20,0	—	35
L-Arginin HCl	0—50	4,2	5,2	7,0	10,0	20,0	—	
L-Asparaginsäure	0—5	0,3	3,5	4,0	4,0	—	—	
L-Cystein	0—0,1	0,01	0,01	0,01	0,01	—	—	
L-Glutaminsäure	0—6	4,7	5,0	5,0	5,0	—	—	40
Glycin	0—80	10,6	13,5	20,0	25,0	40,0	20,0	
L-Histidin HCl	0—1	0,8	1,0	1,0	1,0	—	—	
L-Hydroxyprolin	0—50	6,2	6,2	10,0	12,0	10,0	—	
L-Isoleucin	0—9	0,7	0,9	2,0	3,0	—	—	
L-Leucin	0—10	1,5	2,0	3,0	4,0	—	—	45
L-Lysin HCl	0—25	2,2	2,8	5,0	10,0	20,0	—	
L-Methionin	0—4	0,3	0,4	0,6	0,0	—	—	
L-Phenylalanin	0—10	0,9	1,2	1,5	2,0	—	—	
L-Prolin	0—70	6,6	8,3	12,0	16,0	30,0	60,0	
L-Serin	0—12	1,4	1,8	3,0	5,0	—	—	50
L-Threonin	0—10	1,0	1,2	2,0	3,0	10,0	10,0	
L-Tryptophan	0—0,1	0,001	0,001	0,001	0,01	—	—	
L-Tyrosin	0—2	0,2	0,2	0,3	0,4	—	—	
L-Valin	0—15	1,2	1,7	—	—	—	—	55

Tabelle 7

Beispiele 31 bis 36 (jeweils mg/L Präparat)

Peptide	Bereich	BP-1	BP-2	BP-3	BP-4	BP-5	BP-6	5
X-Y-Ala-Ala-X-Y	0,1–20	1	3	3	10	—	—	10
X-Y-Ala-Gly-X-Y	0,1–30	2	12	20	—	—	—	
X-Y-Ala-Pro-X-Y	0,1–20	—	0,1	—	—	—	—	
X-Y-Arg-Gly-X-Y	0,1–30	0,25	1	2	—	—	—	
X-Y-Gly-Ala-X-Y	0,1–20	4	7	10	—	—	—	
X-Y-Gly-Glu-X-Y	0,1–25	2	4	10	—	—	—	15
X-Y-Gly-Gly-X-Y	1,0–200	75	26	30	100	—	200	
X-Y-Gly-Ser-X-Y	1,0–50	1	2	5	—	—	—	
X-Y-Gly-Leu-X-Y	1,0–100	5	10	20	75	—	75	
X-Y-Gly-Pro-X-Y	0,1–20	1	2	5	—	—	—	
X-Y-Gly-Thr-X-Y	0,1–20	1	2	5	—	—	—	20
X-Y-Gly-Val-X-Y	0,2–50	2	5	5	—	—	—	
X-Y-Pro-Gly-X-Y	0,2–30	1,5	3	3	—	—	—	
X-Y-Pro-Leu-X-Y	0,1–20	1	2	5	—	—	—	
X-Y-Val-Gly-X-Y	0,1–2	—	0,2	—	—	—	—	
X-Y-Val-Pro-X-Y	0,1–2	—	0,3	—	—	—	—	25
X-Y-Gly-Gly-Gly-X-Y	2,0–100	10	15	20	50	—	—	
X-Y-Gly-Ala-Ala-X-Y	0,1–20	0,2	1	2	—	—	—	
X-Y-Gly-Asp-Ser-X-Y	0,01–400	—	—	2	—	—	—	
X-Y-Gly-His-Lys-X-Y	0,001–360	—	2	5	100	2	360	
X-Y-Gly-Pro-Ala-X-Y	0,1–50	0,2	1	2	—	—	—	30
X-Y-Gly-Ser-Ala-X-Y	0,1–50	0,3	1	2	—	—	—	
X-Y-Gly-Gly-Ala-X-Y	0,1–50	—	1	2	—	—	—	
X-Y-Ala-Ala-Gly-X-Y	0,1–50	—	1	2	—	—	—	
Tripeptidfraktion	—	—	2	—	—	—	—	
Hauptpartialhydrolysat	1,0–500	—	500	—	—	—	—	35

Tabelle 8

Beispiele 37 bis 42 (jeweils mg/L Präparat)

Peptide	Bereich	EP-1	EP-2	EP-3	EP-4	EP-5	EP-6	40
X-Y-Ala-Pro-X-Y	1–40	3	10	15	40	—	—	45
X-Y-Gly-Gly-X-Y	10–300	5	40	200	200	200	400	
X-Y-Gly-Val-X-Y	5–340	4	25	25	—	25	—	
X-Y-Val-Gly-X-Y	2–20	2	10	10	—	10	—	
X-Y-Val-Pro-X-Y	1–30	3	3	3	—	—	—	

Tabelle 9

Beispiele 43 bis 48 (jeweils mg/L Präparat)

Spurenelemente	Bereich	CTS-1	CTS-2	CTS-3	CTS-4	CTS-5	CTS-6	55
Eisen-(II)-lactat	0,1–50 mg	—	—	—	—	—	—	60
Magnesiumsulfat	1,0–2000 mg	—	50,0	1600	1600	1600	1600	
Natriummolybdat	0,1–1 mg	—	0,5	0,8	0,8	0,8	1,0	
Mangansulfat	1,0–10 mg	—	0,5	0,8	0,8	0,8	1,0	
Zinksulfat	0,1–10 mg	—	—	—	—	—	—	
Cobaltsulfat	0,01–0,5 mg	—	0,05	0,08	0,08	0,08	0,1	65

Tabelle 13

Beispiele 66 bis 72 (jeweils g/L Präparat)

Weitere Inhaltsstoffe	Bereich	CMS-1	CMS-2	CMS-3	CMS-4	CMS-5	CMS-6
Saccharide:							
Glucose	1,0—200 g	—	20,0	15,0	50,0	100,0	150,0
Galaktose	1,0—30 g	5,0	—	—	20,0	—	—
Mannose	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 14

Beispiele 73 bis 78 (jeweils µg, mg oder g/L Präparat)

Weitere Inhaltsstoffe	Bereich	BMS-1	BMS-2	BMS-3	BMS-4	BMS-5	BMS-6
Saccharide:							
Glucose	1,0—200 g	5,0	50,0	—	100,0	50,0	—
Galaktose	0,5—50 g	0,5	2,0	—	10,0	—	20,0
Mannose	0,5—50 g	0,5	2,0	20,0	20,0	—	—
Nukleotide/Nukleoside:							
Adenin	5,0—50 mg	15,0	—	30,0	25,0	20,0	—
Adenosin	5,0—40 mg	18,0	20,0	30,0	—	20,0	40,0
Cytidin	5,0—30 mg	20,0	—	25,0	30,0	25,0	—
Cytosin	5,0—30 mg	20,0	—	25,0	—	25,0	—
Guanin	3,0—25 mg	15,0	—	25,0	20,0	—	—
Guanosin	3,0—25 mg	18,0	—	25,0	—	25,0	—
Thymin	5,0—50 mg	20,0	—	40,0	40,0	35,0	50,0
Thymidin	5,0—50 mg	20,0	—	50,0	—	30,0	—
Inosin	10,0—100 mg	50,0	100,0	60,0	70,0	50,0	100,0
Proteine/Mucopolysaccharide:							
Hyaluronsäure	1,0—50 g	—	1,0	3,0	—	—	—
Chondroitinsulfat	1,0—50 g	—	1,0	10,0	10,0	5,0	—
Laminin	1,0—50 µg	—	1,0	3,0	3,0	3,0	5,0
Entactin	1,0—50 µg	—	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Fibrillin	1,0—50 µg	—	1,0	1,0	1,0	5,0	5,0
Vitronectin	1,0—50 µg	—	1,0	10,0	10,0	20,0	25,0
Fibronectin	1,0—100 µg	—	1,0	100,0	100,0	300,0	300,0
Nidogen	1,0—50 µg	—	1,0	2,0	2,0	5,0	5,0
Tanescin	1,0—50 µg	—	1,0	2,0	2,0	3,0	3,0
Filagrin	1,0—50 µg	—	1,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Herstellung von Präparat A

1 kg denaturiertes Kollagen (Gelatine) wird in 9 kg 1N-HCl-Lösung suspendiert und angelöst. Die Lösung wird in einem dicht verschlossenen Gefäß unter Rühren schnell auf 100°C erwärmt, die Temperatur 3 Stunden konstant gehalten, anschließend schnell wieder auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 6N-NaOH-Lösung neutralisiert. Das Präparat wird mit Hilfe der Gelchromatographie bzw. anderer geeigneter Methoden entsalzt und/oder mit dest. Wasser auf ein Volumen von 20 l aufgefüllt, mit 0,2% Konservierungsmittel (zum Beispiel Phenonip oder Hydroxybenzoesäureester) konserviert und sterilisiert. Fig. 1 gibt eine Übersicht über die Aminosäuren und Peptide im Präparat A. Fig. 1 ist das Ergebnis einer zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie. Als Vergleich dient Fig. 2 mit einem Standard-Aminosäurengemisch, das unter den gleichen Bedingungen chromatographisch getrennt wurde. Fig. 1A dagegen zeigt die Aminosäuren und Peptide nach unzureichender partieller Hydrolyse.

Die biologische Wirksamkeit des Präparates A wurde durch Bestimmung der Stoffwechselaktivierung an Rattenleber-Mitochondrien geprüft. Das Präparat A verursachte eine 60%ige Stoffwechselsteigerung im Vergleich zur Kontrolle.

Zur Stabilisierung der Peptide enthielt das Präparat A die Rezepturfraction CAH-1 (Tabelle 11, Beispiel 55).

Herstellung von Präparat B

Das Präparat B enthält die Rezepturfractionen CAS-1, CTS-2, CAH-2, CMS-2 und CP-1.

Herstellung des Hautpartialhydrolysats

Gewaschene und von Unterhautfettgewebe befreite Kalbshaut wird zerkleinert. 3 kg zerkleinertes Gewebe (Feuchtgewicht) wird in 7 kg 1,5n-HCl suspendiert, angelöst und in einem dicht verschlossenen Gefäß unter Rühren schnell auf 100°C erwärmt. Nach 3 Stunden bei 100°C wird schnell wieder auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 10n-NaOH-Lösung neutralisiert. Nach mehrstufiger Filtration über Tiefenschichtenfilter wird der geklärte Extrakt mit 0,2% Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz konserviert, der pH-Wert der Lösung auf 6,5 eingestellt und die Lösung unter sterilen Bedingungen sterilfiltriert. Nach Bestimmung des Trockengewichtes wird ein entsprechendes Volumen des Hautpartialhydrolysats — bezogen auf das Trockengewicht — in das Präparat eingebracht.

Die biologische Wirksamkeit des halbsynthetischen Bindegewebsextraktes wurde an Rattenleber-Mitochondrien geprüft. Es wurde eine Steigerung der Stoffwechselaktivität um 80% gemessen.

Applikationsbeispiele 1 und 2

Biotechnologie und Medizin

Applikationsbeispiel 1

Biotechnologie

Zur Stimulierung des Zellwachstums oder der Synthese von Stoffwechselprodukten wird serumarmen oder -freien Zellkulturmedien ca. 1 bis 5% der in dieser Erfindung beschriebenen Präparate zugesetzt. Die Zellkulturnährlösung für Hautfibroblasten hat folgende Zusammensetzung:

94% Dulbecco's Minimal Essential Medium, incl. 2 mmol/l Glutamin,
5% fötales Kälberserum.

Applikationsbeispiel 2

Medizin

Zur Förderung der Wundheilung werden ca. 2 bis 5% der beschriebenen Präparate oder mindestens 50 bis 200 mg Gly-His-Lys/kg in medizinische Salben, Cremes, Lotionen, Tinkturen, Wundheilungssprays eingearbeitet oder Wundabdeckungen damit imprägniert.

Applikationsbeispiele 3 bis 5

Kosmetik

Mindestens drei Wirkeigenschaften der in dieser Erfindung beschriebenen Präparate weisen auf eine erfolgreiche Anwendung bei der Pflege der Haut: Die Steigerung der Stoffwechselaktivität, die Radikalfängerwirkung und die Stimulierung der Kollagensynthese von Fibroblasten.

Die kosmetischen Präparate zur Pflege der Haut: Feuchtigkeits- und Tagescremes für trockene Haut, Nachtcremes, Sonnenschutzpräparate, After-Sun-Lotionen, Anti-Falten-Cremes, Hautschutzcremes und After-Shave-Lotionen sollten eine Mindestkonzentration von 2 bis 5% der in dieser Erfindung beschriebenen Präparate enthalten.

Applikationsbeispiel 5

Sonnenschutzcreme

A. Arlacel 481	8,0%	5
Cremophor WO 7	2,0%	
Elfacos ST 9	2,0%	
Iso-Adipat	12,0%	
Permulgin 3220	2,0%	
Vaseline weiß	5,0%	10
Magnesiumstearat	0,5%	
Aluminiumstearat	0,5%	
Isopropylmyristat	10,0%	
Uvinult 150	3,0%	15
B. 1,2-Propylenglykol	5,0%	
Magnesiumsulfat-7-Hydrat	0,7%	
Phenonip	0,25%	
Wasser	45,75%	
C. Präparat B	3,0%	20
D. Parfumöl	0,3%	

Herstellung

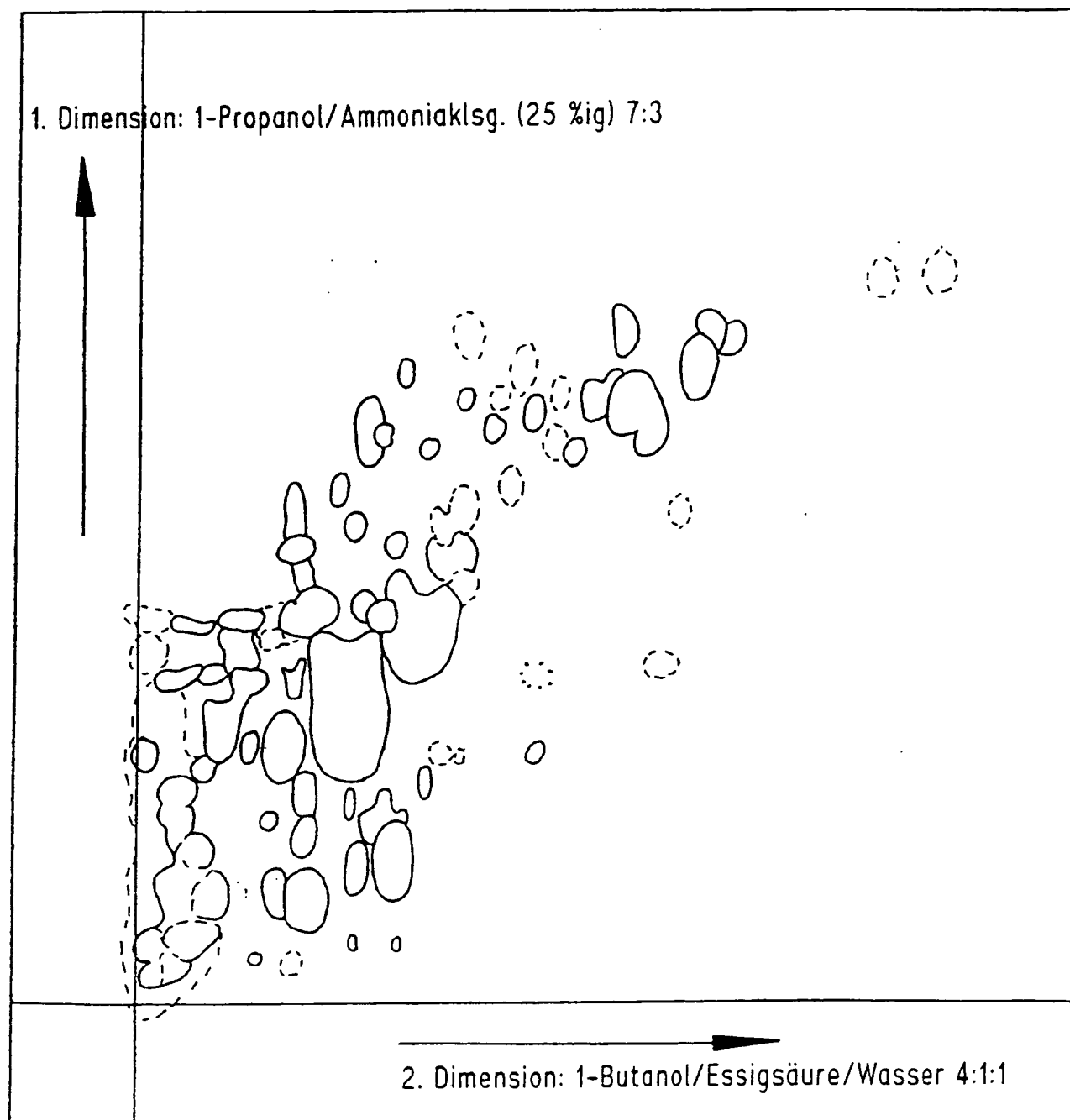
Phase A und Phase B getrennt auf 75°C erwärmen und B in Phase A langsam einrühren, homogenisieren und kaltrühren. C bei 45°C und D bei 35°C einrühren. 25

Patentansprüche

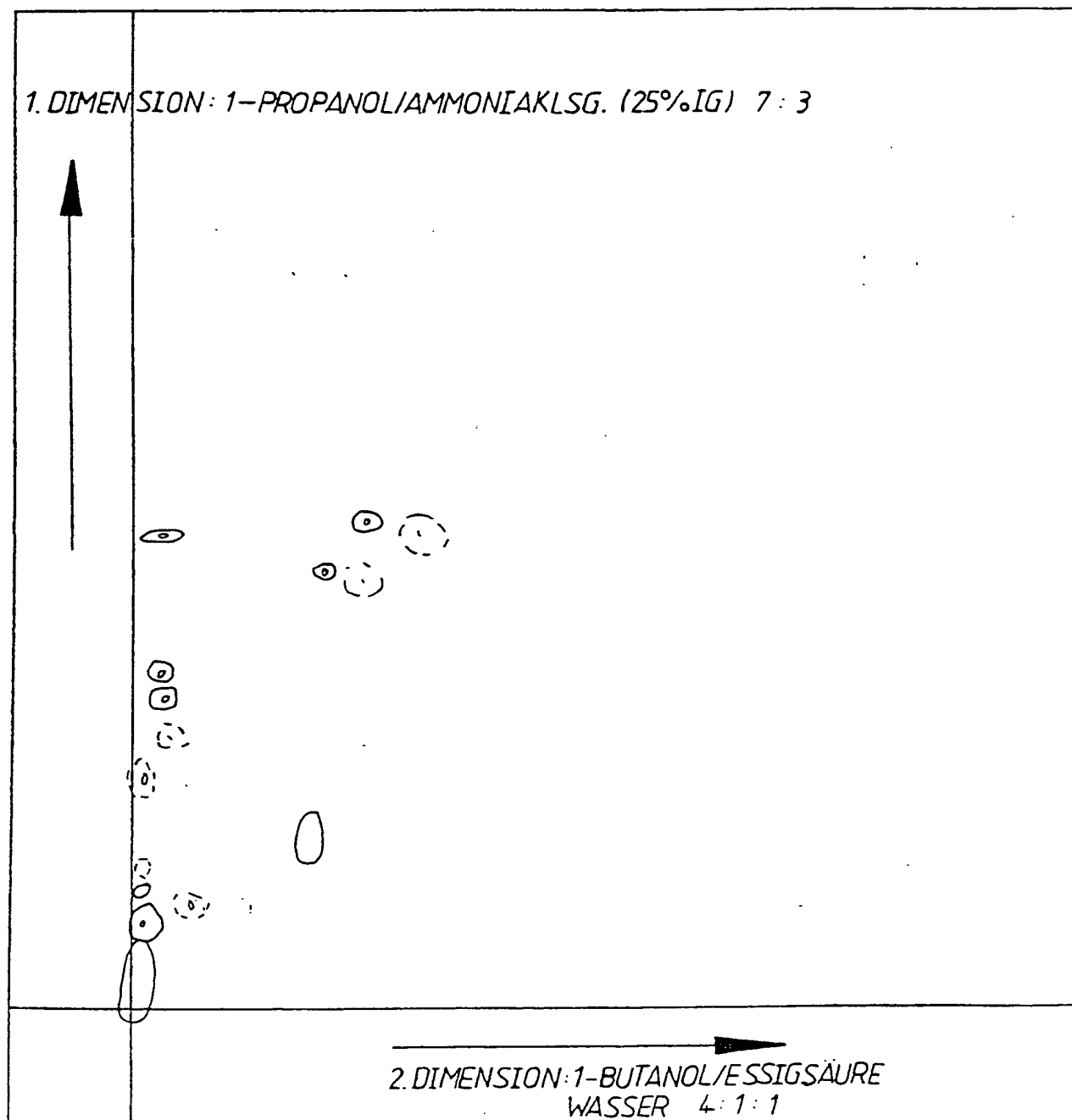
1. Präparat für kosmetische, pharmazeutische und biotechnologische Anwendungen, **dadurch gekennzeichnet**, daß es die Aminosäuresequenz Gly-His-Lys und/oder Gly-Asp-Ser als Tripeptid und/oder Teilabschnitt von Peptiden in einer Konzentration von 10^{-12} bis 10^{-2} mol/L enthält. 30
2. Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es nach milder Hydrolyse von Kollagen, Gelatine, hydrolysierten Gelatine, Elastin, Keratin und Bindegewebe in 0,5- bis 6,0n-HCl 0,1 Stunden bis 7 Tage bei Temperaturen zwischen 20°C und 121°C, Peptide und Aminosäuren in einer Konzentration von 10^{-12} bis 1 mol/L enthält. 35
3. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es Peptide in einer Konzentration von 10^{-12} bis 10^{-2} mol/L enthält, die als Partialhydrolysat durch enzymatische Behandlung mit Kollagenase als Clostridium histolyticum gewonnen werden. 40
4. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Präparat Mineralstoffe und Spurenelemente in einer Konzentration von jeweils 10^{-7} bis 10^{-1} mol/L enthält, vorzugsweise Mg, Mn, Cu, Co, Fe, Se, Mo und/oder Zn und/oder vorzugsweise in Form von Komplexen mit den Peptiden. 45
5. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Wirkungssteigerung vorzugsweise folgende Inhaltsstoffe der Haut und der Bindegewebe in ihrer natürlichen oder hydrolysierten Form in einer Konzentration von 10^{-12} bis 2 mol/L enthält: Saccharide, Polysaccharide, Mucopolysaccharide, Laminin, Entactin, Fibrillin, Vitronectin, Fibronectin, Nidogen, Tanescin, Filagrin, Cytokine, Chalone, zellwachstumsstimulierende, zellwachstumshemmende Substanzen, Immunmodulatoren der Haut, Lipide, Phospholipide, Ceramide, Glycosphingolipide, DNA, RNA, Nukleotide, Nukleoside, Aminosäuren und/oder Enzyme der Haut. 50
6. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Reduzierung der Adsorption wirksamer Peptide an den Innenflächen der Glasgefäße oder Kunststoffgefäße 0,01% bis 30% einer Peptidmischung enthält, vorzugsweise 0,5% Sojaeptide. 55
7. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Reduzierung der Hydrolyse und der Inaktivierung der Peptide jeweils 1% bis 90% wasserlösliche Antioxidantien, Radikalfänger und/oder Radikalquencher enthält, vorzugsweise Ascorbinsäure, Glycerin, Mannit und/oder Sorbit. 60
8. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß für die Anwendung die Konzentration der isolierten Peptide oder der Peptide in den Partialhydrolysaten 10^{-12} bis 10^{-1} mol/L beträgt, vorzugsweise 10^{-7} mol/L für die kosmetische Anwendung und 10^{-3} mol/L für die pharmazeutische Anwendung, bezogen auf die Konzentration der Peptide in den kosmetischen, pharmazeutischen und biotechnologischen Endprodukten. 65
9. Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Wirkungsspektrum des Präparats im Vergleich zu den nicht hydrolysierten Ausgangsmaterialien erweitert ist, vorzugsweise in bezug auf Zellatmungssteigerung, Stimulierung der Kollagensynthese und/oder Radikalfänger-Wirkung.

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

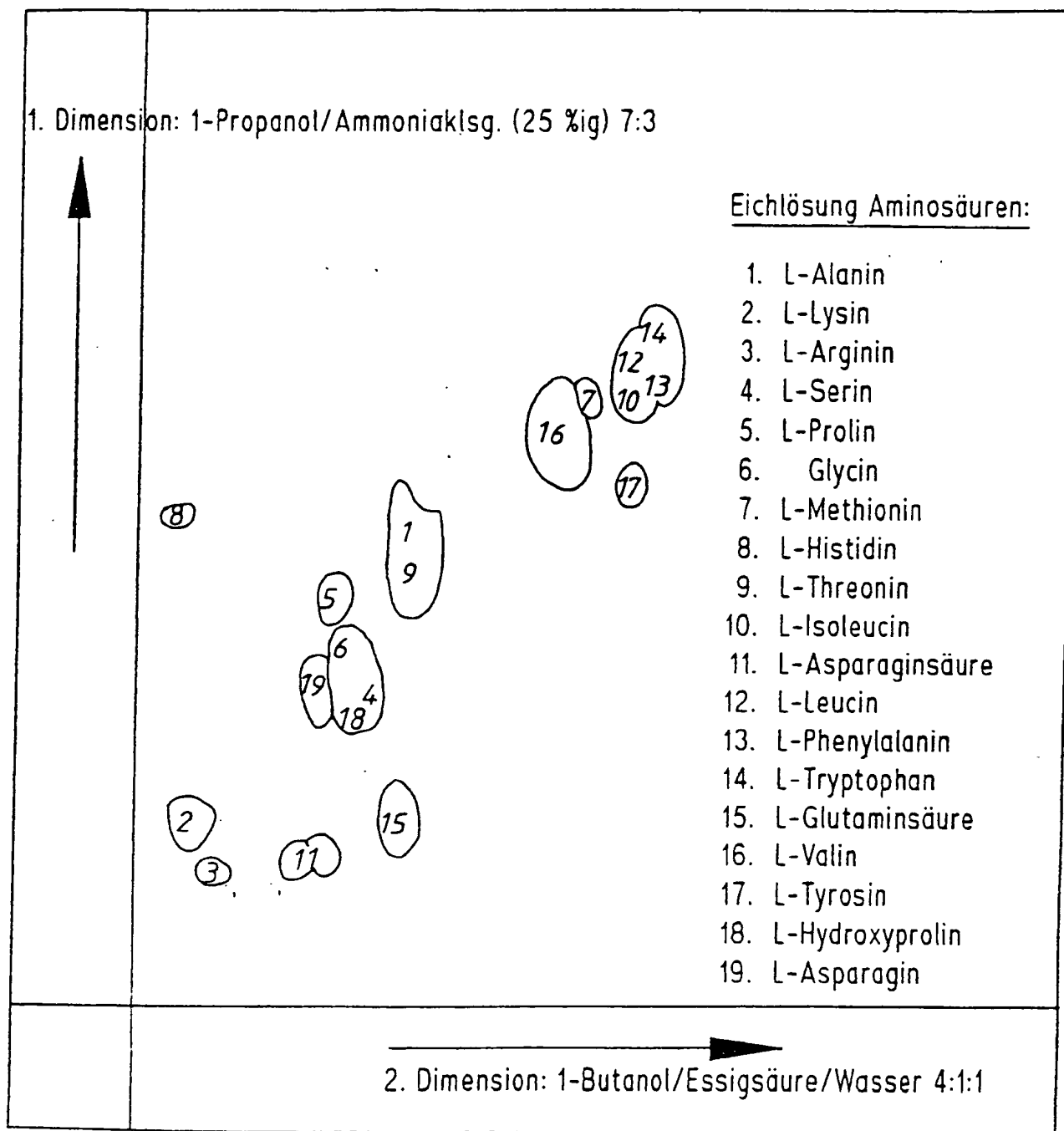
Figur 1: 2-dimensionale Dünnschichtchromatographie
von partialhydrolysierter Gelatine



FIGUR 1A: 2-DIMENSIONALE DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE
VON PARTIALHYDROLYSIERTER GELATINE

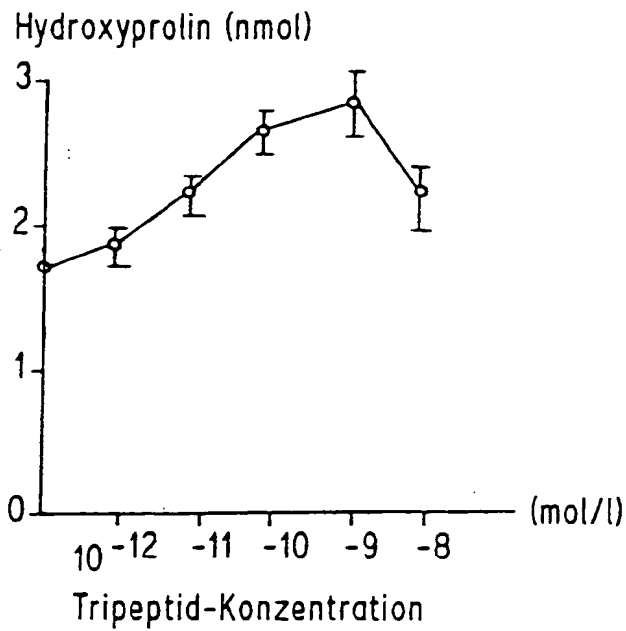


Figur 2: Standard-Aminosäurengemisch nach 2-dim. Dünnschichtchromatographie, ähnlich wie ein Kollagen-Totalhydrolysat

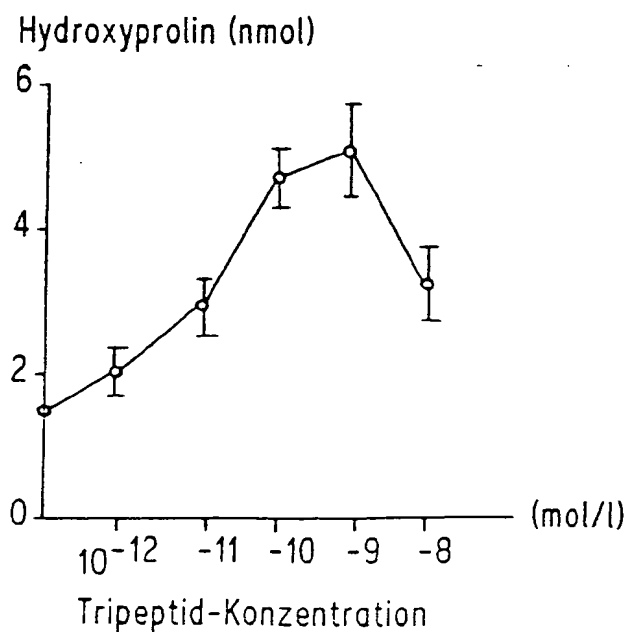


Figur 3: Wirkung des isolierten Tripeptids auf die Kollagensynthese von Fibroblasten der menschlichen Haut.

Figur 3.1.



Figur 3.2.



Figur 4: Aminosäureteilsequenz (Position 1-360) von Kollagen Typ I, α -1

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

(extra-helical peptide, N-terminal): (GLU-
 leu-ser-tyr-gly-tyr-ASP-GLU-LYS-ser-thr-gly-ile-ser-val-pro-)
 gly-pro-met-gly-pro-ser-gly-pro-ARG-gly-leu-hyp-gly-pro-hyp-
 15 gly-ala-hyp-gly-pro-gln-gly-phe-gln-gly-pro-hyp-gly-GLU-hyp-
 30 gly-GLU-hyp-gly-ala-ser-gly-pro-met-gly-pro-ARG-gly-pro-hyp-
 45 gly-pro-hyp-gly-LYS-asn-gly-ASP-ASP-gly-GLU-ala-gly-LYS-pro-
 60 gly-ARG-hyp-gly-GLU-ARG-gly-pro-hyp-gly-pro-gln-gly-ala-ARG-
 75 gly-leu-hyp-gly-thr-ala-gly-leu-hyp-gly-met-HYL-gly-HIS-ARG-
 90 gly-phe-ser-gly-leu-ASP-gly-ala-LYS-gly-ASP-ala-gly-pro-ala-
 105 gly-pro-LYS-gly-GLU-hyp-gly-ser-hyp-gly-GLU-asn-gly-ala-hyp-
 120 gly-gln-met-gly-pro-ARG-gly-leu-hyp-gly-GLU-ARG-gly-ARG-hyp-
 135 gly-ala-hyp-gly-pro-ala-gly-ala-ARG-gly-asn-ASP-gly-ala-ala-
 150 gly-ala-ala-gly-pro-hys-gly-pro-thr-gly-pro-thr-gly-pro-hyp-
 165 gly-phe-hyp-gly-ala-val-gly-ala-LYS-gly-GLU-ala-gly-pro-GLU-
 180 gly-ala-ARG-gly-ser-GLU-gly-pro-gln-gly-val-ARG-gly-GLU-hyp-
 195 gly-pro-hyp-gly-pro-ala-gly-ala-ala-gly-pro-ala-gly-asn-hyp-
 210 gly-ala-ASP-gly-gln-hyp-gly-ala-LYS-gly-ala-asn-gly-ala-hyp-
 225 gly-ile-ala-gly-ala-hyp-gly-phe-hyp-gly-ala-ARG-gly-pro-ser-
 240 gly-pro-GLU-gly-pro-ser-gly-ala-hyp-gly-pro-LYS-gly-asn-ser-
 255 gly-GLU-hyp-gly-ala-hyp-gly-asn-LYS-gly-ASP-thr-gly-ala-LYS-
 270 gly-GLU-hyp-gly-pro-ala-gly-val-gln-gly-pro-hyp-gly-pro-ala-
 285 gly-GLU-GLU-gly-LYS-ARG-gly-ala-ARG-gly-GLU-hyp-gly-pro-ser-
 300 gly-leu-hyp-gly-pro-hyp-gly-GLU-ARG-gly-gly-hyp-gly-ser-ARG-
 315 gly-phe-hyp-gly-ala-ASP-gly-val-ala-gly-pro-LYS-gly-pro-ala-
 330 gly-GLU-ARG-gly-ser-hyp-gly-pro-ala-gly-pro-LYS-gly-ser-hyp-
 345 gly-GLU-ala-gly-ARG-hyp-gly-GLU-ala-gly-leu-hyp-gly-ala-LYS-

Referenz: Collagen in Health and Disease, Umschlaginnenseiten

Eds, J.B.Weiss, M.I.V. Jayson, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1982

Figur 5: Aminosäureteilstsequenz (Position 1-360) von Kollagen Typ I, α -2

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

(extra-helical peptide, N-terminal):

(GLU-phe-ASP-ala-LYS-gly-gly-gly-pro-)

gly-pro-met-gly-leu-met-gly-pro-ARG-gly-pro-hyp-gly-ala-ser-

15 gly-ala-hyp-gly-pro-gln-gly-phe-gln-gly-pro-hyp-gly-GLU-hyp-

30 gly-GLU-hyp-gly-gln-thr-gly-pro-ala-gly-ala-ARG-gly-pro-hyp-

45 gly-pro-hyp-gly-LYS-ala-gly-GLU-ASP-gly-HIS-hyp-gly-LYS-pro-

60 gly-ARG-hyp-gly-GLU-ARG-gly-val-pro-gly-pro-gln-gly-ala-ARG-

75 gly-phe-hyp-gly-thr-hyp-gly-leu-hyp-gly-phe-HYL-gly-ile-ARG-

90 gly-HIS-asn-gly-leu-ASP-gly-leu-thr-gly-gln-hyp-gly-ala-hyp-

105 gly-val-HYL-gly-GLU-hyp-gly-ala-hyp-gly-GLU-asn-gly-thr-hyp-

120 gly-gln-HYL-gly-ala-ARG-gly-leu-hyp-gly-GLU-ARG-gly-ARG-val-

135 gly-ala-hyp-gly-pro-ala-gly-ala-ARG-gly-ser-ASP-gly-ser-val-

150 gly-pro-val-gly-pro-ala-gly-pro-ile-gly-ser-ala-gly-pro-hyp-

165 gly-phe-hyp-gly-ala-hyp-gly-pro-HYL-gly-GLU-leu-gly-pro-val-

180 gly-asn-hyp-gly-pro-ala-gly-pro-ala-gly-pro-ARG-gly-GLU-val-

195 gly-leu-hyp-gly-leu-ser-gly-pro-val-gly-pro-hyp-gly-asn-ala-

210 gly-pro-asn-gly-leu-hyp-gly-ala-HYL-gly-ala-ala-gly-leu-hyp-

225 gly-val-ala-gly-ala-hyp-gly-leu-hyp-gly-pro-ARG-gly-ile-hyp-

240 gly-pro-val-gly-ala-ala-gly-ala-thr-gly-ala-ARG-gly-leu-val-

255 gly-GLU-hyp-gly-pro-ala-gly-ser-HYL-gly-GLU-ser-gly-asn-LYS-

270 gly-GLU-hyp-gly-ala-val-gly-gln-hyp-gly-pro-hyp-gly-pro-ser-

285 gly-GLU-GLU-gly-LYS-ARG-gly-ser-thr-gly-GLU-ile-gly-pro-ala-

300 gly-pro-hyp-gly-pro-hyp-gly-leu-ARG-gly-asn-hyp-gly-ser-ARG-

315 gly-leu-hyp-gly-ala-ASP-gly-ARG-ala-gly-val-met-gly-pro-ala-

330 gly-ser-ARG-gly-thr-ser-gly-pro-ala-gly-val-ARG-gly-pro-asn-

345 gly-ASP-ser-gly-ARG-hyp-gly-GLU-hyp-gly-leu-met-gly-pro-ARG-

Referenz: Collagen in Health and Disease, Umschlaginnenseiten

Eds, J.B.Weiss, M.I.V. Jayson, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1982

Figur 6: Bestimmung
der Radikalfängerwirkung

